

Der Einfluß
von Vorsekret und Sekret der Samenblasen
auf Bullensperma

Fritz Kinast

Aus der gynäkologischen und ambulatorischen Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Walther Baier

**Der Einfluß
von Vorsekret und Sekret der Samenblasen
auf Bullensperma**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität
München



von

Fritz Kinast,
Tierarzt
aus Straubing

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Zipf

Referent: Professor Dr. Walther Baier

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

Druck: Oskar Beck, Straubing, Bahnhofstraße 2

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

I. Besprechung der Literatur	
Allgemeines über den Samen und die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen	6
Spezielles über den Samen und die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen beim Bullen	10
II. Material und Methode	
Gewinnung des biologischen Materials	13
Methode	13
Versuchsanordnung	14
Berechnung des Sauerstoffverbrauches der Spermien	14
III. Eigene Untersuchungen	
Versuche mit Ejakulatsperma	16
Versuche mit Nebenhodensperma	19
IV. Auswertung und Diskussion der Ergebnisse	26
V. Zusammenfassung	29
VI. Literaturverzeichnis	30
VII. Lebenslauf	31

Einleitung

Mit der zunehmenden Bedeutung und Verbreitung der künstlichen Besamung beim Rind in den letzten Jahren wurde auch der Biologie und Biochemie des Samens sowie der Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen größere Aufmerksamkeit geschenkt. Gerade die Kenntnis der Biologie und Biochemie des Samenplasmas und somit der Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen als natürliches Schutz- und Nährmedium für den Samen, ist für die Verdünnungstechnik von großem Nutzen.

Über die Einwirkung der einzelnen Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen auf das Sperma herrschen noch große Unklarheiten. Umfassende Kenntnisse müssen auf diesem Gebiet noch erarbeitet werden.

Vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Untersuchung des Einflusses von Vorsekret und Samenblasensekret auf den Sauerstoffverbrauch von Ejakulat- und Nebenhodensperma und soll ein kleiner Beitrag zu diesem großen Gesamtthema sein.

Allgemeines über den Samen und die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen

Der ejakulierte Samen setzt sich zusammen aus den Spermatozoen und dem Samenplasma. Die Spermien werden in den Hoden gebildet und in den Nebenhoden gespeichert. Während der Ejakulation werden sie mit den Sekreten der akzessorischen Geschlechtsdrüsen vermengt. Die Sekrete der akzessorischen Drüsen bilden das Samenplasma und stellen das natürliche Schutz-, Nähr- und Verdünnungsmedium dar, in welches die Samenzellen eingebettet sind.

Das Samenplasma ist ein Gemisch der Sekrete der Nebenhoden, der Samengänge (vasa deferentia), der Ampullen, der Samenblase, der Prostata, der Cowperschen oder Harnröhrenzwiebelndrüsen und gewisser Drüsen der Harnröhrenwand.

Den Hauptteil am Samenplasma der höheren Tiere liefern die Samenblase und die Prostata.

Die Zusammensetzung des Ejakulates bei den einzelnen Tierarten und auch die Schwankungen in der Zusammensetzung der Ejakulate der einzelnen Individuen, die zu den gleichen Spezies gehören, ist verschieden, je nach den Anteilen von Spermien und Sekreten der einzelnen akzessorischen Drüsen.

Götze (5) hat den Anteil der akzessorischen Drüsensekrete am Gesamt-ejakulat der einzelnen Haussäugetiere untersucht und wie folgt beschrieben:

Rind:

Samenblasensekret	0,2 — 2,0 ml = 10 — 40%
Prostatasekret	0,1 — 0,5 ml = 4 — 6%

Das Sekret der Cowperschen Drüsen wird schon während der Erektion vor dem Einführen des Penis ausgespritzt und gelangt nicht in das Ejakulat. Seine Menge beträgt 10 — 20 ml.

Schaf und Ziege:

Samenblasensekret	0,1 — 0,4 ml = 7 — 8%
Prostatasekret	0,05 — 0,1 ml.

Das Sekret der Cowperschen Drüsen wird schon beim Vorspiel ausgespritzt. Seine Menge beträgt 5 — 10 ml.

Hengst:

Samenblasensekret	20 — 180 ml = 25 — 35%
Prostatasekret	15 — 150 ml = 25 — 30%

Das Sekret der Harnröhrenzwiebelndrüsen wird schon während der Erektion vor dem Einführen des Penis abgesondert. Seine Menge beträgt 5 — 30 ml.

Eber:

Samenblasensekret	20 — 250 ml = 10 — 30%
Prostatasekret	100 — 350 ml = 35 — 60%

Das Sekret der Cowperschen Drüsen wird während der Gesamtdauer der Ejakulation insbesondere gegen Ende des Samenergusses abgesondert. Sein Anteil am Ejakulat beträgt 20 — 200 ml = 15 — 30 %.

Hund:

Prostatasekret

30 — 40 ml = 85 — 90%

Ein auffallender Unterschied besteht zwischen den Tierarten mit Scheidenbesamung (Wiederkäuer) und denen mit Gebärmutterbesamung (Hengst, Eber, Hund), wobei der gesamte mengenmäßige Anteil aller akzessorischen Drüsensekrete am Ejakulat der Scheidenbesamer gering, der der Gebärmutterbesamer weitaus höher ist.

Der Gesamtanteil der Sekrete der akzessorischen Drüsen am Ejakulat beträgt nach Götze (5) beim

kleinen Wiederkäuer	= 10%
Bullen	= 50 — 90%
Hengst, Eber, Hund	= 99 — 99,5%

Ferner fällt auf, daß bei den Tierarten mit Scheidenbesamung trotz des geringen Anteils der akzessorischen Drüsensekrete am Ejakulat, sämtliche akzessorischen Drüsen vorhanden sind, während bei den Tieren mit Gebärmutterbesamung einzig das Pferd vollzählig mit akzessorischen Drüsen ausgerüstet ist. Dem Eber fehlen die Samenleiterampullen und der Hund ist nur mit einer verhältnismäßig großen Prostata ausgestattet.

Bei den einzelnen Säugetieren erfolgt die Ausschüttung der Sekrete der Nebendrüsen nicht gleichzeitig, sondern in einer bestimmten zeitlichen Reihenfolge.

Nach Götze (5) unterteilt man grundsätzlich in eine Vorphase der Ejakulation und in die Ejakulation als solche. Bei der Vorphase der Ejakulation wird das Sekret der Bulbourethraldrüsen und das der Urethraldrüsen — beim Schwein nur das letztere — abgespritzt. Der größte Teil dieses Vorsekretes gelangt nicht in das weibliche Genitale. Das beim Hengst, Eber und Hund während der Friktionsbewegungen abgehende Vorsekret fließt in die Scheide.

Bei den Wiederkäuern erfolgt die Ejakulation synchron oder einphasisch, d. h. der Inhalt des Nebenhodens und der Inhalt der akzessorischen Geschlechtsdrüsen vermischen sich in Sekundenschnelle. Hengst, Eber, Hund ejakulieren asynchron oder zweiphasisch.

In jüngster Zeit fand zur Untersuchung der Reihenfolge der Ejakulation die sogenannte Spaltejakulationsmethode Anwendung, welche sich je nach Art des Samenergusses auf das Einsammeln und die Analyse separater Teile des gleichen Ejakulates stützt. Mc Kenzie, Miller und Bauguess (9) konnten mittels dieser Methode beim Eber drei deutliche Fraktionen unterscheiden, die sie als Vor-Sperma-(pre-sperm), Sperma-reich-(sperm-rich) und Nach-Sperma-(post-sperm)-Fraktionen bezeichneten.

Glover und Mann (4, 19) untersuchten diese drei Fraktionen in Bezug auf die Verteilung der drei Substanzen Fruktose, Zitronensäure und Ergothionein, welche in den Samenblasen des Ebers gebildet werden, und kamen durch die chemische Bestimmung dieser Substanzen zu der Feststellung, daß während der Ejakulation die Ausschüttung des Samenblasensekretes mit der Abgabe der Spermien zusammenfällt oder dieser unmittelbar nachfolgt.

Beim Hengst wurden die einzelnen Phasen der Ejakulation erst vor kurzer Zeit durch Mann, Leone und Polge (20) ermittelt. Es wurden zwei Fraktionen unterschieden, eine Sperma-reich-Fraktion, die milchig,

aber nicht gelatinös ist, und eine Nach-Sperma-Fraktion, welche reichlich aus gelatinösem Material besteht. Als charakteristische Bestandteile des Hengstsamens werden Ergothionein, welches in den Ampullen gebildet wird, und Zitronensäure, welche in den Samenblasen gebildet wird, bezeichnet. Es wurde gefunden, daß während der Ejakulation des Hengstes zuerst die Hauptmasse der Spermien und das ergothioneinreiche Ampullensekret ausgestoßen wird und dann erst das zitronensäurereiche Samenblasensekret.

Die Ejakulation des Stieres, der physiologisch einphasisch ejakuliert, wurde von Lutwak-Mann und Rowson (13) unter Anwendung der Spaltejakulationsmethode in Verbindung mit elektrischen Anreizen untersucht. Es wurden bei elektrisch veranlaßten Stierejakulaten zwei Fraktionen gefunden. Die erste Fraktion war vollständig spermafri, leicht klebrig, farblos und von urethralem Ursprung. Sie enthielt geringe Mengen Mukopolysaccharide, keine Fruktose oder Zitronensäure und sehr wenig Protein. Die zweite war eine cremartige Spermafraktion, gemischt mit einer gelblich gefärbten Nach-Sperma-Fraktion, die fast reines Samenblasensekret mit einem charakteristisch hohen Gehalt an Fruktose und Zitronensäure darstellte.

Die sekretorische Funktion der männlichen Nebenorgane ist überwiegend abhängig von dem im Hoden gebildeten männlichen Geschlechtshormon. Die Bildung und Ausscheidung dieses Hormones steht in Abhängigkeit zu dem gonadotropen Einfluß, der durch den Hypophysenvorderlappen auf die Hoden stattfindet. Die Aufgabe des männlichen Geschlechtshormones in Bezug auf die Nebendrüsen ist es, deren Entwicklung und Wachstum zu steuern und die Produktion ihrer Sekrete zu leiten (16).

Die hohe sekretorische Aktivität und funktionelle Wichtigkeit der männlichen Nebendrüsen ist deutlich an den Versuchen von Lutwak-Mann, Mann und Price (12) zu erkennen, die feststellten, daß subkutan in Ratten transplantierte Fragmente dieser Drüsengewebe bei Vorhandensein von männlichem Geschlechtshormon prompt ihre spezifischen chemischen Funktionen, wie z. B. die Sekretion von Fruktose und Zitronensäure, wieder aufnahmen.

Die den Sekreten der einzelnen Phasen zukommende biologische Bedeutung sieht Götze (5) darin, daß das Sekret der Vorphase die Harnröhre reinigt und somit zum Schutz der nachfolgenden Spermien vorbereitet. Bei den Tieren, bei denen dieses Sekret in die Scheide gelangt, dient es als Gleitmittel und zur physiologischen Vorbereitung der Schleimhaut am Eingang des Zervikalkanals. Das weniger spermienfreundliche, aber doch anregende Vorsekret wird durch die Friktionsbewegungen gleichmäßig verteilt und kann sich daher nur in geringen Mengen dem Ejakulat beimengen.

Beim Erguß der ersten Ejakulationsphase, der immer das dichte, gut lebensfähige Nebenhodensperma enthält, soll erreicht werden, daß dieser für die Befruchtung ausschlaggebende Sekretschub unverdünnt und als erster in das weibliche Genitale vordringt.

Der Erguß der zweiten Ejakulationsphase ist bei allen Tieren mit zweiphasischer Besamung der Masse nach am bedeutendsten und hat die Aufgabe, den spermienhaltigen Anteil möglichst tief in die Gebärmutterhörner einzuschwemmen.

Die russischen Forscher Sokolovskaja, Drozbova, Golseva (26) u. a. sind der Ansicht, daß die Sekrete der akzessorischen Drüsen die Aufgabe haben, den Transport des Samens im Organismus selbst aktiv zu bewegen. Nach Milovanov (22) wird durch die Nebendrüsensekrete das Einsaugen des Sauerstoffes verstärkt. Nach seiner Ansicht ist die Einwirkung der Sekrete der Anhangdrüsen beim natürlichen Deckakt nur von kurzer Dauer und wird in den weiblichen Geschlechtsorganen bedeutend herabgesetzt. Der Samen dringt in das weibliche Genitale ein und verteilt sich im Gebärmutterhals, Gebärmutter, Eileiter, die Sekrete der Nebendrüsen aber bleiben in der Scheide oder Gebärmutter, je nach Art der Besamung zurück.

Scheunert-Trautmann (25) bezeichnen die Prostata als die wichtigste akzessorische Drüse, die keinem Säugetier fehlt, und nehmen an, daß die Erlangung der Beweglichkeit der Spermien an das Zusammenreffen mit diesem Sekret gebunden ist und der Organismus ohne Tätigkeit der Prostata nicht befruchtungsfähig ist.

Carroll (2) dagegen sieht die Prostataflüssigkeit nicht als unentbehrlichen Teil des Samens an, da eine Befruchtung mit aus dem Nebenhoden stammenden, also prostatasekretfreiem Samen durchaus möglich ist.

Einige Arbeiten befassen sich mit der chemischen Zusammensetzung der Sekrete der akzessorischen Drüsen.

Das Samenblasensekret wurde von Brüggemann, Bronsch, Drepper und Schole (25) auf seine chemische Zusammensetzung untersucht und die Durchschnittswerte unter dem Einfluß der Sommer- und Winterfütterung ermittelt.

Das Prostatasekret wurde von Huggins bei Hund und Schafbock untersucht. Im Sekret waren anzutreffen: Protein, Glykose, Zitronensäure, Ascorbinsäure und Cholesterin. Er sieht als wichtigsten Bestandteil eine saure Phosphatase an, deren Beziehung zur Sexualfunktion daraus hervorgeht, daß sie vor der Geschlechtsreife in kleinen und nach der Pubertät in großen Mengen anzutreffen ist (6).

Über die chemische Zusammensetzung des Sekretes der Cowperschen Drüsen war keine Arbeit erreichbar. Götze (5) bezeichnet das Sekret als nicht besonders spermienfreundlich: „In vitro damit zusammengebrachte Spermien verhalten sich zwar mitunter länger lebensfähig als im unverdünnten Ejakulat, verlieren aber nach anfänglicher Anregung bald an Aktivität.“

Spezielles über den Samen und die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen beim Bullen

Das Sekret der akzessorischen Geschlechtsdrüsen, das Samenplasma, war gerade beim Bullen Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.

Im Vergleich zu anderen Körperflüssigkeiten zeichnet sich das Samenplasma durch seinen hohen Gehalt an Fruktose, Zitronensäure, Ergothionein, Cholin, Phosphorylcholin und einer Mannigfaltigkeit von charakteristischen und hochaktiven Enzymen, sowie einer sauren und einer alkalischen Phosphatase, 5-Nukleotidase, Fibrinolysin und Fibrinogenase aus (14, 15).

Gleichfalls hervorgehoben sei die hohe Pufferkapazität des Samenplasmas, die den Ausgleich zu der während des Spermastoffwechsels auftretenden Milchsäureazidität herstellt. Der Puffer wird vor allen Dingen von Phosphaten, Bikarbonaten, Zitraten und Eiweißen gebildet (28).

Gerade die Beweglichkeit und Lebensfähigkeit der Spermien wird durch verschiedene Bestandteile des Sekrets in sehr hohem Ausmaße beeinflusst.

Die für die Spermazellen erforderliche Energie wird aus glykolytischen Prozessen gewonnen. Der charakteristische Vorgang beim Energiestoffwechsel der Spermien ist die Fruktolyse. Bei den im Sperma festgestellten „reduzierenden Substanzen“ handelt es sich hauptsächlich um d(—)-Fruktose (14).

Seine durchschnittliche Menge im ejakulierten Samen beträgt zwischen 300—500 mg je 100 ml Ejakulat. Als Höchstwerte wurden bis 1000 mg / 100 ml Ejakulat verschiedene Male veröffentlicht. Diese für die Zellatmung unbedingt notwendigen Hexosen werden vor allen Dingen in den Samenblasen gebildet (14). Die Fruktosekonzentration steht nach Mann (15) in keiner Beziehung zur Spermadichte. Dies konnte besonders deutlich durch den „exhaustion test“ gezeigt werden: Bei acht Sprüngen des gleichen Stieres innerhalb von einer Stunde betrug die Spermadichte des achten Ejakulates nur noch ein Zwanzigstel des ersten. Diese Abnahme der Spermadichte war aber nicht von einer korrespondierenden Abnahme der Fruktosekonzentration begleitet, sondern diese blieb die gleiche.

Die Produktion der Fruktose steht vielmehr ebenso wie die der Zitronensäure unter dem direkten Einfluß des Testosteron, so daß nach Mann und Parson (21) umgekehrt die Aktivität des männlichen Keimdrüsenhormons mit dem Fruktosegehalt der Samenflüssigkeit parallel geht (Fruktosetest).

Die in den Hoden und Nebenhoden lagernden Spermien sind unbeweglich. Bei der Ejakulation kommen sie auf dem Weg durch den männlichen Zeugungstrakt erstmals mit dem fruktosehaltigen Samenplasma in Berührung und erreichen sofort eine hohe Beweglichkeit.

Die hierzu erforderlichen Energien werden durch Fruktolyse gewonnen. Die Synthese der Fruktose in den akzessorischen Drüsen ist an eine Reihe von in ihnen enthaltenen Fermenten geknüpft, die den Blutzucker (Glukose) in Fruktose umwandeln (25). Der Abbau der Fruktose geschieht durch Reaktion über ATP (Adenosintriphosphorsäure) über Triosephosphat zur Phosphoglyzerinsäure und Brenztraubensäure (15, 24, 1). Hierbei nimmt einerseits der Fruktosegehalt bei den Spermien ständig ab, anderseits

erhöht sich der Milchsäurespiegel, als Endprodukt des anaeroben Abbaus, laufend. Ist im anaeroben Stoffwechsel der Fruktosegehalt erschöpft, so sind die Spermien unfähig, sich weiterzubewegen und sterben ab. Bei einer entsprechenden Pufferung des Mediums, da bei Milchsäureanhäufung schnell Aziditätsschäden der Spermien auftreten, können Fruktosegaben ein Absterben verhindern.

Durch Ejakulate, die keine Spermien enthalten oder durch unbewegliche Spermien wird Fruktose nicht oder nur in geringem Maße verwertet. Die chemische Bestimmung über die Menge der verschwindenden Fruktose eines Ejakulates kann als rasches, geeignetes und quantitatives Maß für die Spermienbeweglichkeit herangezogen werden (18).

Während nun der Samen bei Mangel an Sauerstoff von der Fruktose, als der Hauptenergiequelle, abhängt, ist der Prozeß der Fruktolyse an die verschlungenen Beziehungen zwischen den glykolytischen Anteilen des Samenplasmas und dem System der glykolytischen Enzyme der Samenzellen gebunden. Als wichtigste glykolytische Enzyme des Samens sind bisher Hexokinase, Zymohexase, Phosphotriose-Dehydrogenase, einige Phosphokinasen und Milchsäure-Dehydrogenase bekannt (15).

Fehlt der eine oder der andere Faktor, so leidet darunter die Fruktolyse.

Ferner sei darauf hingewiesen, daß von den Spermien neben der Fruktose auch organische Säuren verwertet werden können. Humphrey und Mann (7) und Lutwak-Mann (12) untersuchten den Einfluß der Zitronensäure auf den Stoffwechsel der Spermien und fanden, daß die Zitronensäure von den Spermien aerob und anaerob verwertet werden kann. Eine Abhängigkeit der sogenannten „Zitrolyse“ von der Fruktolyse besteht nicht.

Auf der anderen Seite zeitigt die Anwesenheit von Sauerstoff bei den Spermazellen eine außerordentlich hohe Atmungsaktivität. Die Intensität der Atmung, ebenso wie die der Fruktolyse, ist abhängig von der Dichte und Beweglichkeit der Spermien. Das zellfreie Samenplasma des Bullen weist keine selbständige Atmung auf (28).

Wird das Samenplasma eines Ejakulates durch Zentrifugieren oder Waschen entfernt, dann bleiben die Spermien aerobisch beweglich und verbrauchen bei einer Temperatur von 37° C in einer Stunde 10—20 μ l O₂ pro 10⁹ Spermien.

Dieser Sauerstoffverbrauch wird, mengenmäßig berechnet, als Kriterium für die Lebensfähigkeit und -intensität der Spermien eines Ejakulates angesehen.

Die Quelle dieser endogenen Atmung, die im Gegensatz zur exogenen Atmung (Fruktolyse) von extrazellulären Substraten unabhängig ist, ist noch unbekannt. Nach Lardy und Phillips (10, 11) handelt es sich hierbei um ein Lipoid. Bei gewaschenen Spermasuspensionen, denen zuerst der Zucker entzogen wurde und die dann bei Sauerstoffanwesenheit untersucht wurden, besteht eine deutliche Abnahme im Phospholipid-Phosphorgehalt.

Hinsichtlich der Atmungsintensität bei Ejakulat- und Nebenhodenspermien ergaben sich wesentliche Unterschiede. Nebenhodenspermien besitzen eine bedeutend geringere endogene Atmungskapazität. Diese Erscheinung wird mit dem Reifungsprozeß, den die Spermien durchzumachen

haben, in Zusammenhang gebracht. Nebenhodenspermien, die ein bis zwei Tage bei 4° C gelagert waren, reifen beschleunigt aus und zeigen dies dann durch eine erhöhte Atmungsintensität, wobei aber die Werte von ejakuliertem Sperma nicht erreicht werden. Dieser unterschiedliche Reifezustand zeigt sich auch im Stoffwechsel. Beim Nebenhodensperma verläuft die anaerobe Glykolyse bedeutend (3—7mal) schneller als die aerobe, während beim Ejakulationsperma die anaerobe Glykolyse annähernd so schnell wie die aerobe verläuft.

Nach Lard y (11) liegt im Nebenhodensperma ein Stoffwechselregulator in gebundener Form vor, der während der Ejakulation in die aktive Form übergeht. Roedel (23) fand, daß diese Auslösefunktion Sulfid- bzw. Sulfitionen zukommt.

Vorliegende Literatur gibt zu erkennen, daß über die Bedeutung und den Einfluß der Sekrete der akzessorischen Drüsen auf den Stoffwechsel und somit die Befruchtungsfähigkeit der Spermien noch große Unklarheiten bestehen.

Die chemische Zusammensetzung einiger Sekrete akzessorischer Geschlechtsdrüsen bei einzelnen Tierarten und die Verwertung dieser chemischen Bestandteile bei Stoffwechsel der Spermien ist bekannt. Die Wirkung der akzessorischen Geschlechtsdrüsensekrete aber auf die Befruchtungsfähigkeit der Spermien ist noch nicht nachgewiesen. Erwiesen ist, daß bei einigen Tierarten eine Befruchtung mit reinem Nebenhodensperma, also ohne die Sekrete der akzessorischen Geschlechtsdrüsen durchaus möglich ist.

Über die Rolle des Vorsekretes bei der Ejakulation des Bullen und über die Einwirkung dieses Sekretes auf die Samenzellen herrschen noch große Zweifel.

Zum Begriff „Vorsekret“ ist hier noch zu sagen, daß es sich hierbei nicht einzig um das Sekret der Cowperschen Drüsen handelt, sondern daß dieses Sekret sich zusammensetzt aus Anteilen sowohl der Cowperschen Drüsen, als auch der verschiedenen Drüsen der Harnröhrenwand.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist es, durch die künstliche Zugabe unterschiedlicher Mengen von Vor- und Samenblasensekret des Bullen zu Ejakulat- und Nebenhodensperma, den Effekt dieser Zusätze auf den Stoffwechsel der Spermien festzustellen und eventuell Schlüsse über den Einfluß dieser Sekrete auf die Befruchtungsfähigkeit der Spermien zu ziehen.

Material und Methode

Gewinnung des biologischen Materials

Das **Ejakulatsperma** stammte von den Bullen der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München und wurde durch den Sprung auf die künstliche Scheide gewonnen.

Das **Nebenhodensperma** wurde aus den Nebenhoden von am Schlachthof München geschlachteten Bullen bezogen. Es wurden nur die spermienreichen Teile des Nebenhodenschwanzes verwendet. Diese wurden in etwa erbsengroße Stücke zerschnitten und in Phosphatpuffer pH 7,2 (2 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ H}_2\text{O}$, 0,2 g KH_2PO_4 , aqua dest. ad 100 ml) gebracht. Die Spermien wandern dadurch in die Flüssigkeit aus und durch Dekantieren konnte eine Spermasuspension gewonnen werden, die eine durchschnittliche Dichte von 150 000 bis 700 000 Spermien pro mm^3 hatte.

Das **Vorsekret** wurde von den Klinikbullen vor der Samenentnahme gewonnen. Nach dem Ausschachten des Penis kann es mittels Glasrichter und Becherglas aufgefangen werden. Seine Menge betrug 10—20 ml. Sein Gehalt an reduzierenden Substanzen, bestimmt nach der Methode Hagedorn-Jensen, war in allen Fällen gleich Null.

Das **Samenblasensekret** wurde am Schlachthof München aus den Samenblasen frisch geschlachteter Bullen durch Einführen einer sterilen Pipette in den Hauptausführungsgang und schonendem Massieren der Drüse gewonnen. Seine Menge betrug je nach dem Alter der Tiere zwischen 3 und 30 ml. Ältere Tiere gaben mehr Sekret.

Das **Samenplasma** wurde durch Abzentrifugieren von Ejakulatsperma und Abpipettieren der überstehenden Flüssigkeit gewonnen.

Methode

Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauches erfolgte mittels der manometrischen Methode nach Warburg (3): Die bei der Atmung in einem geschlossenem System entstehende Kohlensäure wird durch Alkalilauge absorbiert, so daß indirekt durch die Volumensminderung der Sauerstoffverbrauch manometrisch gemessen werden kann.

1. mit Ejakulatsperma:

Nach der Gewinnung und Bestimmung der Dichte mit der Zählkammer wurden vom Ejakulat zweimal 1 ml Sperma entnommen und getrennt voneinander in ein Wasserbad von 20° C gebracht. Der verbliebene Rest wurde fünf Minuten mit 4500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und von dem überstehenden Plasma 1,5 ml abpipettiert und gleichfalls ins Wasserbad verbracht.

Das jeweils verwendete Drüsensekret wurde 20 Minuten bei 4500 U/min. zentrifugiert und anschließend dekantiert, um zelluläre und korpuskuläre Bestandteile, die den Sauerstoffverbrauch in den Reaktionsgefäßen ihrerseits beeinflußt hätten, daraus zu entfernen.

Dem einen Teil Ejakulatsperma wurde nun 1,5 ml Plasma und 7,5 ml Phosphatpuffer, dem anderen Teil 1,5 ml jeweils verwendetes Drüsensekret und gleichfalls 7,5 ml Phosphatpuffer hinzugegeben, so daß in beiden Samenaufschwemmungen die gleiche Dichte und die gleiche Verdünnung (1 : 9) bestand.

2. mit Nebenhodensperma:

Nach Herstellung der Nebenhodenspermasuspension wurden zweimal 8,5 ml der Suspension abpipettiert und getrennt voneinander ins Wasserbad verbracht, dem einen Teil der Suspension wurde 1,5 ml Phosphatpuffer, dem anderen 1,5 ml jeweils verwendetes Drüsensekret hinzugegeben. Die Dichte der endgültigen Verdünnung wurde mittels der Zählkammer bestimmt.

Bei einem Teil der Versuche wurden 3,0 ml jeweils verwendetes Drüsensekret zu 7,0 ml Nebenhodenspermasuspension hinzugegeben

Versuchsanordnung

Zur Beantwortung einer jeden Fragestellung wurden jeweils mindestens drei Versuche in gleicher Anordnung gemacht.

Bei den Versuchen mit Ejakulatsperma wurde immer der Einfluß des betreffenden Drüsensekretes auf das Sperma im Vergleich zur gleichen Menge hinzugegebenen Samenplasmas untersucht.

Beim Ejakulatsperma wurde pro Versuch der Sauerstoffverbrauch in

3 Reaktionsgefäßen mit Sperma-Plasma-Phosphatpuffer

3 Reaktionsgefäßen mit Sperma-Sekret-Phosphatpuffer

gemessen. 2 Reaktionsgefäße mit reinem zentrifugiertem Sekret ohne Sperma und 2 Reaktionsgefäße ohne Einlage liefen zur Kontrolle mit.

Bei den Versuchen mit Nebenhodensperma wurde immer der Einfluß des verwendeten Sekretes auf den Sauerstoffverbrauch der Nebenhodenspermien im Vergleich zu einer Nebenhodenspermasuspension gleicher Verdünnung untersucht.

Pro Versuch wurde der Sauerstoffverbrauch wieder in

3 Reaktionsgefäßen mit Nebenhodenspermasuspension-Phosphatpuffer

3 Reaktionsgefäßen mit Nebenhodenspermasuspension-Sekret

gemessen. 2 Reaktionsgefäße mit reinem zentrifugiertem Sekret und 2 Reaktionsgefäße ohne Einlage liefen zur Kontrolle mit.

Abgefüllt wurden pro Reaktionsgefäß 3 ml mit Vollpipette. Zur Absorption der Kohlensäure kamen in den Inneneinsatz 0,2 ml n/NaOH. Der Sauerstoffverbrauch wurde bei einer Temperatur von + 38°C und einer Schüttelfrequenz von 80/min. nach 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, bei einem Teil auch noch in Abständen von 30 min. bis 480 Minuten abgelesen.

Berechnung des Sauerstoffverbrauches

$$x = h \frac{V_G \frac{273}{T} + V_F \cdot a}{P_o}$$

x = Sauerstoffverbrauch in cmm.

h = Volumensänderung in mm — Brodie korrigiert um mm — Brodie des Kontrollmanometers.

V_G = Volumen des Reaktionsgefäßes, abzüglich der eingebrachten Flüssigkeitsmengen.

T = Absoluttemperatur (in diesem Falle 273 + 38 = 311).

P_o = Normaldruck in Brodie (10 000).

Der Faktor $V_F \alpha$ (Volumen der Flüssigkeit $\times$ Bunsenschen Absorptionskoeffizienten) wurde bei sämtlichen Berechnungen außer Acht gelassen, da der entsprechende Wert klein und für das Ergebnis ohne Bedeutung ist.

Die so errechneten Werte ergeben den Sauerstoffverbrauch aller in einem Reaktionsgefäß vorhandenen Spermien. Um die einzelnen Ejakulate, deren Dichte ja variiert, vergleichen zu können, wurden sämtliche Werte auf den Sauerstoffverbrauch von 10^9 Spermien umgerechnet:

$$E = \frac{x \cdot 10^9}{S}$$

E = Sauerstoffverbrauch von 10^9 Spermien.

x = Sauerstoffverbrauch eines Reaktionsgefäßes.

S = Gesamtzahl der in einem Reaktionsgefäß eingebrachten Spermien.

Der Sauerstoffverbrauch wird hier als Ausdruck des Stoffwechsels, d. h. der Gesamtlebensäußerung und -intensität der Spermien angesehen. Werden die Spermien nun von irgendeinem Mittel angeregt, bzw. geschädigt, so äußern sie dies durch vermehrten bzw. verminderten Stoffwechsel, also Sauerstoffverbrauch.

Da der absolute Sauerstoffverbrauch der Spermien bei den einzelnen Bullen große individuelle Unterschiede aufweist, drückt man beim gleichen Ejakulat den Einfluß eines Prozesses auf die Spermien im Vergleich zu sonst vollkommen gleich behandelten Kontrollen in Prozenten des Sauerstoffverbrauches der Kontrollen aus.

$$y = \frac{\text{Sauerstoffverbrauch nach der Einwirkung mal } 100}{\text{Sauerstoffverbrauch vor der Einwirkung}}$$

Die Prozentzahl y gibt unabhängig vom absoluten Sauerstoffverbrauch der Spermien an, inwieweit sich ein Vorgang hemmend oder fördernd auf den Stoffwechsel der Samenzellen auswirkt.

Ergebnisse

Versuche mit Ejakulatsperma

1. Die Einwirkung von Vorsekret auf Ejakulatsperma

In Abbildung 1 ist der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch der Ejakulate von drei Bullen aufgezeichnet, denen (Endverdünnung 1 : 9) 1,5 ml eigenes, zentrifugiertes Vorsekret zugesetzt wurde. Im Vergleich dazu der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch der gleichen Spermaproben mit Zusatz von 1,5 ml eigenem Samenplasma. Die zur Kontrolle mitlaufenden Reaktionsgefäße mit zentrifugiertem Vorsekret und Samenplasma wiesen keine selbständige Atmung auf.

Bei jedem im Versuch verwendeten Vorsekret wurde eine Bestimmung des Gehaltes an reduzierenden Substanzen nach Hagedorn-Jensen vorgenommen. Dieser war in allen Fällen gleich Null.

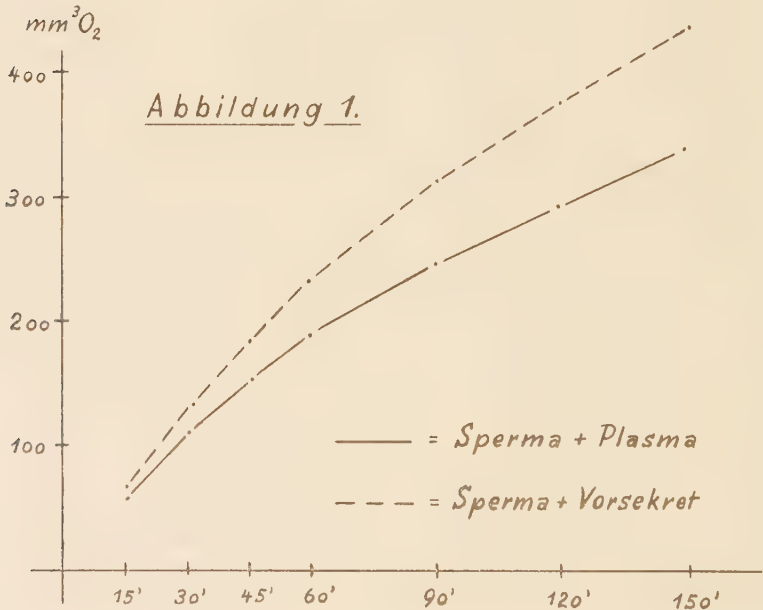


Abb. 1: Durchschnitt des Sauerstoffverbrauches von drei Ejakulaten unter dem Einfluß von 1,5 ml zentrifugiertem Vorsekret im Vergleich zur gleichen Menge Samenplasma

Wertetabelle zu Abb. 1:

Sp. + Vorsekret	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
Versuch I	/	60,0	112,0	163,0	202,0	270,0	327,0	380,0	cmml O ₂
Versuch II	/	81,0	165,0	230,0	292,0	395,0	465,0	530,0	cmm O ₂
Versuch III	/	65,0	127,0	170,0	217,0	280,0	353,0	384,0	cmm O ₂
Durchschn.-Werte	/	68,7	134,7	187,7	237,0	315,0	375,0	431,3	cmm O ₂
Kontrolle I	/	51,5	97,0	144,0	183,0	240,0	296,0	348,0	cmm O ₂
Kontrolle II	/	60,0	117,0	158,0	203,0	260,0	294,0	335,0	cmm O ₂
Kontrolle III	/	70,0	124,0	163,0	190,0	238,0	290,0	330,0	cmm O ₂
Durchschn.-Werte	/	60,0	112,7	155,0	192,7	246,0	293,3	337,7	cmm O ₂

Steigerung des O₂-Verbrauches der mit Vorsekret versehenen Spermaproben im Vergleich zu den Spermaproben mit Zusatz von Samenplasma in Prozenten.

/	15	30	45	60	90	120	150	min.
	14,5	19,5	21,0	22,9	28,0	27,8	27,7	%

Die Werte in dieser Tabelle geben an, um wieviel Prozent der Gesamtsauerstoffverbrauch der mit Vorsekret versehenen Spermaproben zu dem jeweiligen Zeitpunkt über dem Gesamtsauerstoffverbrauch der Spermaproben mit Zusatz von Samenplasma lag.

2. Der Einfluß von körperfremdem Vorsekret auf Ejakulatsperma

In dieser Versuchsreihe wurde untersucht, ob der Sauerstoffverbrauch von Ejakulatsperma durch Zugabe von körpereigenem oder körperfremdem Vorsekret unterschiedlich beeinflußt werde.

Die Versuche wurden so angesetzt, daß dem Ejakulatsperma des Bullen A sowohl eigenes Vorsekret, als auch vergleichsweise Vorsekret des Bullen B zugegeben wurde. Diese Samenproben wiederum wurden mit einer Kontroll-samenprobe, bestehend aus Ejakulatsperma des Bullen A und Samenplasma des Bullen A, verglichen.

Pro Versuch war also die Versuchsanordnung folgende:

- Sperma des Bullen A plus Vorsekret des Bullen A,
- Sperma des Bullen A plus Vorsekret des Bullen B,
- Sperma des Bullen A plus Samenplasma des Bullen A.

Ein Unterschied in der Einwirkung von körpereigenem oder körperfremdem Vorsekret auf den O₂-Verbrauch des Spermas bestand nicht.

Die aus der Tabelle ersichtlichen Unterschiede dürften sich innerhalb der Fehlergrenze der Methode bewegen.

In den mit zellfreiem, zentrifugiertem Vorsekret bzw. Samenplasma versehenen Reaktionsgefäßen trat keine selbständige Atmung auf.

Wertetabelle zu 2.:

1. Versuch:	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
Sperma A + Vorsek. A	/	53,1	104,2	125,0	143,0	187,7	204,1	230,5	cmm O ₂
Sperma A + Vorsek. B	/	43,6	83,5	108,8	130,8	179,9	205,4	234,5	cmm O ₂
Sperma A + Plasma A	/	45,2	88,4	105,3	127,3	162,0	182,6	205,2	cmm O ₂

2. Versuch:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.	
Sperma A + Vorsek. A	/	47,9	93,8	114,2	133,3	171,2	203,8	234,0	cmm	O ₂
Sperma A + Vorsek. B	/	45,2	88,4	113,2	139,0	172,0	198,3	218,7	cmm	O ₂
Sperma A + Plasma A	/	42,8	83,7	109,0	132,7	169,3	194,3	211,3	cmm	O ₂

3. Versuch:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.	
Sperma A + Vorsek. A	/	52,4	100,8	145,2	187,4	251,0	311,0	360,2	cmm	O ₂
Sperma A + Vorsek. B	/	47,4	95,4	140,0	181,8	245,7	303,2	351,2	cmm	O ₂
Sperma A + Plasma A	/	39,4	82,8	124,0	162,4	215,4	263,0	302,4	cmm	O ₂

Durchschnittswerte aus den Versuchen 1, 2 und 3:

Sperma A + Vorsek. A	/	51,1	99,6	128,1	154,6	203,3	239,6	274,9	cmm	O ₂
Sperma A + Vorsek. B	/	47,4	89,1	120,7	150,5	199,2	235,6	268,1	cmm	O ₂
Sperma A + Plasma A	/	42,5	84,9	112,8	140,8	182,2	213,3	239,6	cmm	O ₂

3. Die Einwirkung von Vorsekret auf Ejakulatsperma über längere Zeit

In dieser Versuchsreihe sollte festgestellt werden, über welche Zeitspanne hinweg sich der anregende Einfluß des Vorsekretes auf Ejakulatsperma geltend mache.

Es wurden drei Versuche angestellt. Der Ejakulatspermaprobe eines Bullen wurde nach oben beschriebener Versuchsanordnung jeweils 1,5 ml frisches, zentrifugiertes Vorsekret und der Kontrollsperrmaprobe 1,5 ml zentrifugiertes Samenplasma zugesetzt. Die Versuchsdauer betrug vier Stunden. Abgelesen wurde in Abständen von 30 Minuten.

Durchschnittswerte aus drei Versuchen:

	/	30	60	90	120	150	180	210	240	min.	
Sperma + Vorsekret	/	113,8	195,4	272,1	338,9	398,3	450,2	497,2	541,8	cmm	O ₂
Sperma + Plasma	/	98,5	163,5	220,5	268,8	312,9	346,3	384,5	418,4	cmm	O ₂

Steigerung des Gesamtsauerstoffverbrauches der mit Vorsekret versehenen Samenproben im Vergleich zum O₂-Verbrauch der Samenproben mit Samenplasmazusatz in Prozenten:

/	30	60	90	120	150	180	210	240	min.	
	15,5	19,5	23,4	26,0	27,2	30,0	29,3	29,4	%	

4. Der Einfluß von Samenblasensekret auf Ejakulatsperma

Bei der Untersuchung des Einflusses von Samenblasensekret auf Ejakulatsperma mußte körperfremdes Samenblasensekret verwendet werden.

In Abbildung 2 ist der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch von drei Ejakulaten unter dem Einfluß von 1,5 ml frischem, zentrifugiertem Samenblasensekret aufgezeichnet. Zum Vergleich der Sauerstoffverbrauch der gleichen Spermaproben mit Zusatz von 1,5 ml zentrifugiertem Samenplasma.

Das zentrifugierte, spermienfreie Samenblasensekret wies keine selbständige Atmung auf.

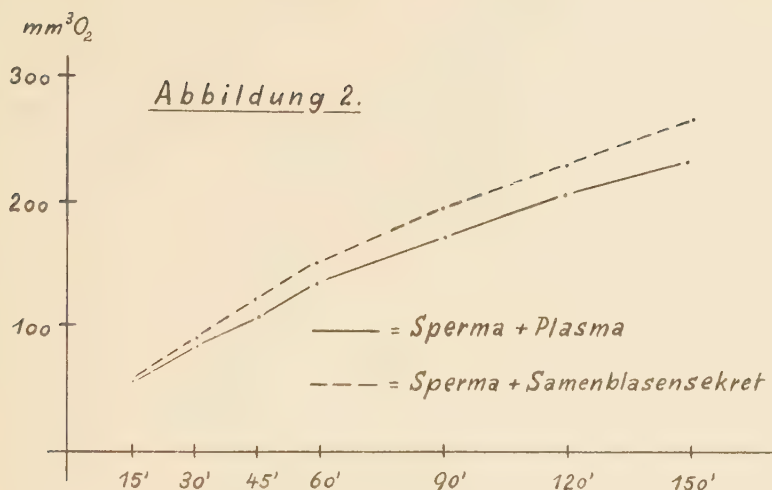


Abb. 2: Durchschnitt des O_2 -Verbrauches von drei Ejakulaten unter dem Einfluß von 1,5 ml Samenblasensekret. Im Vergleich dazu der Sauerstoffverbrauch der gleichen Samenproben mit Zusatz von 1,5 ml Samenplasma.

Wertetabelle zu Abb. 2:

Sp. + Sam-Bl-Sekr.	/	15	30	45	60	90	120	150 min.	
Versuch I	/	32,5	63,0	80,0	112,0	150,0	183,0	221,0	cmm O_2
Versuch II	/	101,0	144,0	198,0	241,0	296,0	336,0	376,0	cmm O_2
Versuch III	/	35,0	68,0	85,0	107,0	143,0	176,0	202,0	cmm O_2
Durchschn.-Werte	/	56,1	91,7	121,0	153,3	196,3	231,7	266,3	cmm O_2
Kontrolle I	/	40,5	70,0	81,5	108,0	136,0	160,0	178,0	cmm O_2
Kontrolle II	/	98,0	135,0	173,0	214,0	263,0	301,0	336,0	cmm O_2
Kontrolle III	/	27,5	50,0	71,0	89,0	125,0	160,0	191,0	cmm O_2
Durchschn.-Werte	/	55,3	85,0	108,5	137,0	174,7	207,0	235,0	cmm O_2

Steigerung des O_2 -Verbrauches der mit Samenblasensekret versehenen Spermaproben im Vergleich zu den Spermaproben mit Zusatz von Samenplasma in Prozenten:

/	15	30	45	60	90	120	150 min.	
	1,4	6,7	11,5	11,9	12,3	11,9	13,3	%

Versuche mit Nebenhodensperma

1. Die Einwirkung von frisch gewonnenem Vorsekret auf Nebenhodensperma

Abbildung 3 zeigt den durchschnittlichen Sauerstoffverbrauch der Nebenhodenspermuspensionen dreier Bullen bei Zusatz von 1,5 ml frisch gewonnenem und sofort verarbeitetem, zentrifugiertem Vorsekret im Vergleich zum durchschnittlichen Sauerstoffverbrauch der gleichen Nebenhodenspermaproben ohne Zusatz.

In den mit zentrifugiertem Vorsekret versehenen Kontrollgefäßen wurde kein Sauerstoff verbraucht.

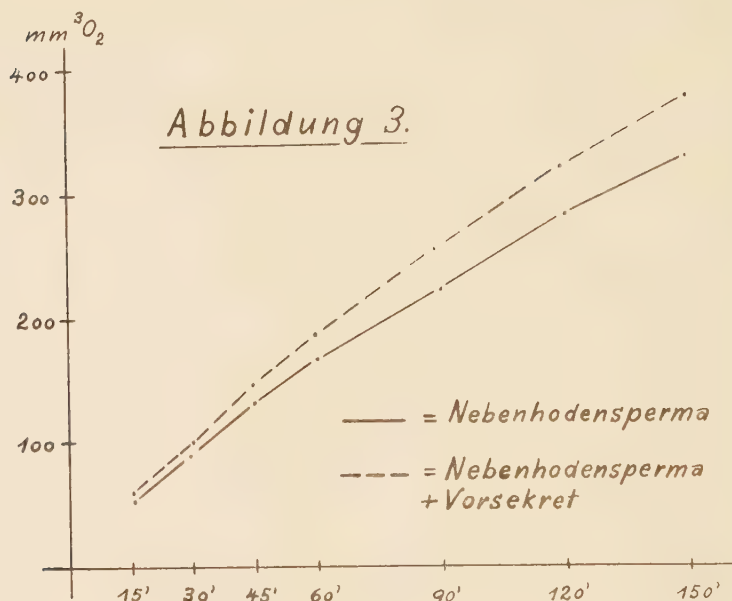


Abb. 3: Durchschnitt des Sauerstoffverbrauches der Nebenhodenspermiasuspensionen dreier Bullen unter dem Einfluß von 1,5 ml frischen Vorsekretes im Vergleich zur Oxygenaufnahme der gleichen Nebenhodenspermiaproben ohne Zusatz.

Wertetabelle zu Abb. 3:

Ne-Sp. + Vorsekret	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
Versuch I	/	59,5	94,5	134,0	168,9	224,5	265,3	300,2	mm O ₂
Versuch II	/	72,2	121,4	179,1	228,5	316,9	405,2	486,6	mm O ₂
Versuch III	/	49,3	89,7	135,3	168,4	229,2	296,3	349,8	mm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	60,3	101,9	149,5	188,6	256,9	322,3	378,9	mm O ₂
Kontrolle I	/	55,0	95,4	134,4	167,8	222,1	263,9	295,2	mm O ₂
Kontrolle II	/	62,0	104,8	153,7	196,2	269,2	352,2	419,8	mm O ₂
Kontrolle III	/	44,0	80,1	114,7	139,2	182,9	229,2	268,8	mm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	53,7	93,4	134,3	167,7	224,7	281,8	327,7	mm O ₂

Steigerung des O₂-Verbrauches der Nebenhodenspermiaproben mit Zusatz von frischem Vorsekret im Vergleich zu den gleichen Spermaproben ohne Zusatz in Prozenten:

/	15	30	45	60	90	120	150	min.
	12,2	9,1	11,3	12,4	14,3	14,3	15,6	%

2. Die Einwirkung von gelagertem Vorsekret auf Nebenhodensperma

In Abbildung 4 ist der Durchschnitt des Sauerstoffverbrauches des Nebenhodenspermas von drei Bullen aufgezeichnet, welchem jeweils 1,5 ml zentrifugiertes und drei Stunden lang nach der Gewinnung im Wasserbad — Kühlschrank gelagertes Vorsekret zugesetzt wurde. Zum Vergleich der Oxygenverbrauch derselben Nebenhodenspermaproben, ohne Zusatz. Die Reaktionsgefäße mit zentrifugiertem, gelagertem Vorsekret ließen keine selbständige Atmung erkennen.

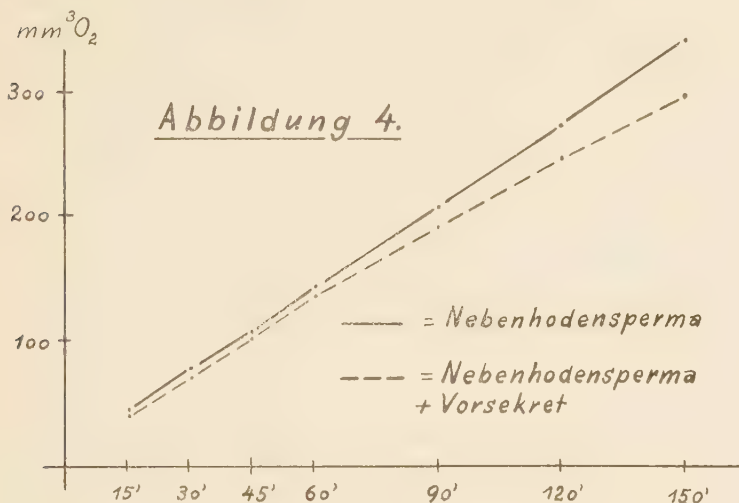


Abb. 4: Der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch von Nebenhodensperma unter dem Einfluß von 1,5 ml gelagertem Vorsekret. Im Vergleich dazu die Atmung derselben Nebenhodenspermaproben ohne Zusatz.

Wertetabelle zu Abb. 4:

Ne-Sp. + Vorsekret	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
Versuch I	/	43,5	71,8	102,6	134,3	191,3	256,4	311,8	cmm O ₂
Versuch II	/	49,8	82,0	118,0	150,2	207,6	243,0	279,3	cmm O ₂
Versuch III	/	32,5	61,3	92,0	127,5	181,8	246,3	308,2	cmm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	41,9	71,7	104,2	137,3	193,6	248,6	299,8	cmm O ₂
Kontrolle I	/	44,0	73,4	104,3	140,9	202,5	277,0	351,3	cmm O ₂
Kontrolle II	/	51,1	97,9	124,8	163,2	233,0	282,3	336,8	cmm O ₂
Kontrolle III	/	32,0	61,4	92,3	128,9	190,5	265,1	340,3	cmm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	42,3	77,6	107,1	144,3	208,7	274,8	342,8	cmm O ₂

Abfall des O₂-Verbrauches der mit gelagertem Vorsekret versehenen Nebenhodenspermaproben im Vergleich zum Sauerstoffverbrauch der gleichen Spermaproben ohne Zusatz in Prozenten:

/	15	30	45	60	90	120	150	min.
	1,0	7,6	2,1	4,9	7,3	9,5	12,6	%

Die Werte der Tabelle geben an, um wieviel Prozent der Gesamtsauerstoffverbrauch der Samenproben mit Zusatz von gelagertem Vorsekret zu den betreffenden Zeitpunkten geringer war, als der Gesamt-O₂-Verbrauch der Spermaproben ohne Zusatz.

3. Die Einwirkung von frisch gewonnenem Samenblasensekret auf Nebenhodensperma

In Abbildung 5 ist der durchschnittliche Sauerstoffverbrauch der Nebenhodenspermaproben von drei Bullen dargestellt, denen je 1,5 ml frisch gewonnenes und sofort verarbeitetes, zentrifugiertes Samenblasensekret zugesetzt wurde. Als Vergleich die durchschnittliche Atmung der gleichen Nebenhodenspermuspensionen ohne Zusatz.

Die Kontrollgefäße mit zentrifugiertem Samenblasensekret wiesen keine selbständige Atmung auf.

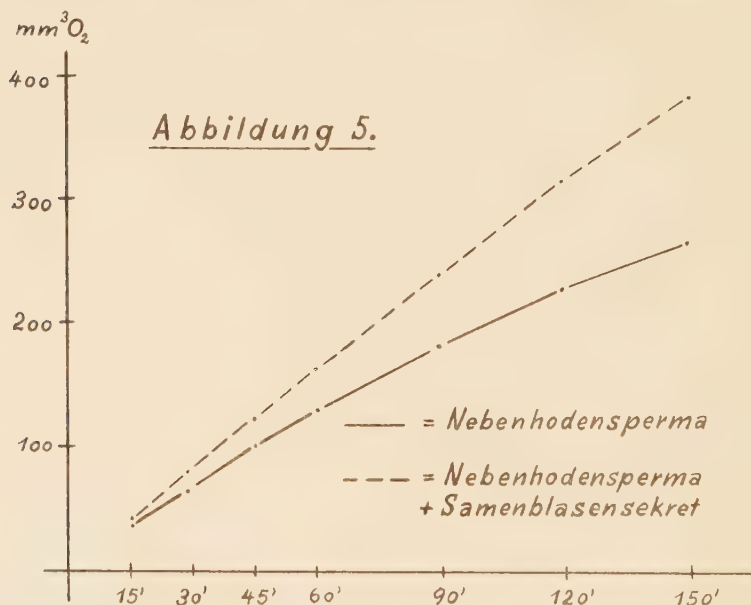


Abb. 5: Durchschnitt des Sauerstoffverbrauches dreier Nebenhodenspermaproben unter dem Einfluß von 1,5 ml frisch gewonnenem Samenblasensekret im Vergleich zur Atmung derselben Spermaproben ohne Zusatz.

Wertetabelle zu Abb. 5:

Nhdsp. + Sblsekr.	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
Versuch I	/	43,9	76,9	114,8	144,6	205,7	272,9	328,9	cmm O ₂
Versuch II	/	43,5	89,2	137,3	182,3	267,5	352,0	420,8	cmm O ₂
Versuch III	/	43,7	87,7	122,5	165,6	245,9	321,1	392,0	cmm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	43,7	84,6	124,9	164,2	239,7	315,3	380,6	cmm O ₂

Kontrolle I	/	38,4	63,9	92,3	112,5	153,1	188,4	218,9	cmm O ₂
Kontrolle II	/	45,0	86,9	129,2	172,6	235,7	288,1	326,9	cmm O ₂
Kontrolle III	/	48,9	58,6	94,8	106,2	158,4	206,5	243,1	cmm O ₂
Durchschn.-Werte:	/	37,3	69,8	101,6	130,4	182,4	227,3	262,9	cmm O ₂

Steigerung des O₂-Verbrauches der mit frischem Samenblasensekret versehenen Nebenhodenspermaproben im Vergleich zu den gleichen Spermaproben ohne Zusatz in Prozenten:

/	15	30	45	60	90	120	150	min.
	17,1	21,2	22,9	25,9	31,4	38,7	44,7	%

4. Die Einwirkung von gelagertem Samenblasensekret auf Nebenhodensperma

In dieser Versuchsreihe wurden den Nebenhodenspermaproben von drei Bullen jeweils 1,5 ml Samenblasensekret zugesetzt, welches drei Stunden im Wasserbad — Kühlschrank aufbewahrt worden war. Die betreffenden Kontrollspermaproben enthielten keinen Zusatz.

In Abbildung 6 sind die Durchschnittswerte aus drei Versuchen aufgezeichnet.

Die Reaktionsgefäße mit zentrifugiertem, gelagertem Samenblasensekret ließen keine selbständige Atmung erkennen.

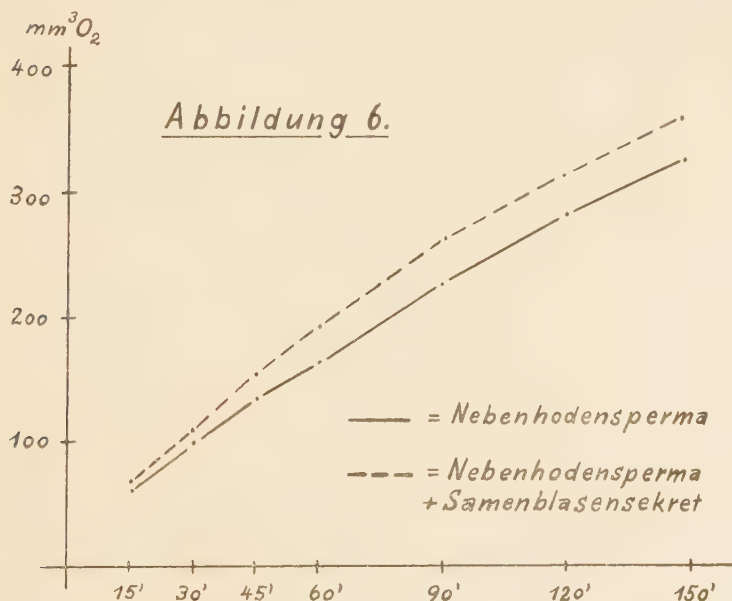


Abb. 6: Durchschnitt des O₂-Verbrauches von Nebenhodensperma unter dem Einfluß von gelagertem Samenblasensekret im Vergleich zum O₂-Verbrauch der gleichen Samenproben ohne Zusatz.

Wertetabelle zu Abb. 6:

Nhdsp. + Sblsekr.	/	15	30	45	60	90	120	150	min.	
Versuch I	/	59,0	93,5	131,2	169,0	241,2	295,4	346,3	cmm	O ₂
Versuch II	/	96,0	143,8	198,0	226,3	282,9	333,3	381,2	cmm	O ₂
Versuch III	/	46,5	89,2	137,3	182,3	267,5	321,8	363,4	cmm	O ₂
Durchschn.-Werte:	/	67,2	108,8	155,5	192,5	263,9	316,8	363,6	cmm	O ₂
Kontrolle I	/	54,8	87,8	123,8	141,1	213,2	249,3	286,8	cmm	O ₂
Kontrolle II	/	80,9	120,7	151,3	180,5	237,7	305,7	369,6	cmm	O ₂
Kontrolle III	/	45,0	86,9	129,2	172,6	235,7	288,1	326,9	cmm	O ₂
Durchschn.-Werte:	/	60,2	98,5	134,8	164,7	228,9	281,0	327,8	cmm	O ₂

Steigerung des O₂-Verbrauches der mit gelagertem Samenblasensekret versehenen Nebenhodenspermproben im Vergleich zu den gleichen Spermaproben ohne Zusatz in Prozenten:

/	15	30	45	60	90	120	150	min.
	11,6	10,4	15,3	16,8	15,2	12,7	10,9	%

5. Vergleich der Beeinflussung des O₂-Verbrauches von Nebenhodensperma durch Zugabe von 1,5 ml bzw. 3,0 ml frisch gewonnenem, zentrifugiertem Vorsekret in Prozenten

Zusatz von 1,5 ml Vorsekret:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.	
a)	/	60,3	101,9	149,5	188,6	256,9	322,3	378,9	cmm	O ₂
b)	/	53,7	93,4	134,3	167,7	224,7	281,8	327,7	cmm	O ₂
c)	/	12,2	9,1	11,3	12,4	14,3	14,3	15,6	%	

Zusatz von 3,0 ml Vorsekret:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.	
a)	/	66,3	136,6	195,0	249,2	347,7	409,7	492,1	cmm	O ₂
b)	/	56,4	115,1	153,4	204,0	285,0	351,5	429,0	cmm	O ₂
c)	/	17,5	18,6	27,1	22,1	22,0	16,5	14,7	%	

Zeichenerklärung:

- Durchschnittswerte des Gesamtsauerstoffverbrauches von drei Nebenhodenspermproben mit Zusatz von 1,5 ml bzw. 3,0 ml frisch gewonnenem, zentrifugiertem Vorsekret (cmm O₂ / 10⁹ Spermien).
- Durchschnitt des O₂-Verbrauches der gleichen Nebenhodenspermproben ohne Zusatz.
- Steigerung des Gesamtsauerstoffverbrauches der Spermaproben mit Zusatz von 1,5 ml bzw. 3,0 ml Vorsekret gegenüber dem Gesamtsauerstoffverbrauch der Samenproben ohne Zusatz in Prozent.

6. Vergleich der Beeinflussung des O₂-Verbrauches von Nebenhodensperma durch Zugabe von 1,5 ml bzw. 3,0 ml frischem, zentrifugiertem Samenblasensekret in Prozenten

Zusatz von 1,5 ml Samenblasensekret:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
a)	/	43,7	84,6	124,9	164,2	239,7	315,3	380,6	cmm O ₂
b)	/	37,3	69,8	101,6	130,4	182,4	227,3	262,9	cmm O ₂
c)	/	17,1	21,2	22,9	25,9	31,4	38,7	44,7	%

Zusatz von 3,0 ml Samenblasensekret:

	/	15	30	45	60	90	120	150	min.
a)	/	54,6	104,8	151,0	201,1	288,1	382,0	465,1	cmm O ₂
b)	/	50,9	98,0	139,8	175,8	233,7	285,6	331,0	cmm O ₂
c)	/	7,2	6,9	8,0	14,3	23,2	33,7	40,5	%

Zeichenerklärung:

- a) = Durchschnittswerte des Gesamtsauerstoffverbrauches von drei Nebenhodenspermaproben mit Zusatz von 1,5 ml bzw. 3,0 ml frischem, zentrifugiertem Samenblasensekret (cmm O₂ / 10⁹ Spermien).
- b) = Durchschnitt des O₂-Verbrauches der gleichen Nebenhodenspermaproben ohne Zusatz.
- c) = Steigerung des Gesamtsauerstoffverbrauches der Nebenhodenspermaproben mit Zusatz von 1,5 ml bzw. 3,0 ml Samenblasensekret gegenüber dem Gesamtsauerstoffverbrauch der Samenproben ohne Zusatz in Prozent.

Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

Als Index zur Beurteilung der Stoffwechselintensität wurde der Sauerstoffverbrauch der Spermien herangezogen und mittels der Methode nach Warburg gemessen.

Sämtliche Spermaproben wurden einer mikroskopischen Prüfung auf Massen-, Vorwärts- und Ortsbewegung unterzogen. Im Versuch fanden nur Spermaproben Verwendung, bei denen der Prozentsatz an unbeweglichen Spermien nicht höher als 15% war.

Bei den Versuchen mit Ejakulatsperma wurde die Einwirkung des betreffenden Sekretes auf die Spermien immer im Vergleich zu einer Spermaprobe des gleichen Ejakulates, der eine der Sekretmenge gleiche Menge Samenplasma zugesetzt war, festgestellt. Das Samenplasma wurde den Kontrollspermaproben zugegeben, um den Verdünnungseffekt möglichst herabzusetzen.

Bei den Versuchen mit Nebenhodensperma wurde der Einfluß des jeweiligen Sekretes auf das Nebenhodensperma im Vergleich zu denselben Nebenhodenspermaproben ohne Zusatz ermittelt.

Alles Vorsekret, welches im Versuch Verwendung fand, wurde sofort nach der Gewinnung auf seinen Gehalt an „reduzierenden Substanzen“ mittels der Methode nach Hagedorn-Jensen untersucht. Der Gehalt an „reduzierenden Substanzen“ war bei allen untersuchten Vorsekretproben gleich Null.

Der Vorsatz von frischem Vorsekret zu Ejakulatsperma (Abb. 1) bewirkte eine Steigerung des Gesamtsauerstoffverbrauches dieser Spermaproben im Vergleich zu den mit der gleichen Menge Samenplasma versehenen Vergleichsspermaproben. In Prozenten ausgedrückt ergab sich folgendes Bild:

Die Vorsekret-Ejakulatspermaproben verbrauchten innerhalb der ersten 15 Minuten um 14,5% mehr Sauerstoff als die Vergleichsproben. Dieser Mehrverbrauch an Sauerstoff stieg bis zur 90. Minute laufend an und erreichte zu dieser Zeit einen Höhepunkt mit einem Gesamtsauerstoffverbrauch, der um 28,0% höher lag als der der Vergleichsspermaproben. Nach diesem Zeitpunkt fiel der Sauerstoffverbrauch der Vorsekret-Ejakulatspermaproben langsam ab, so daß er nach 15 Minuten nur mehr um 27,7% höher lag, als der der Vergleichsspermaproben.

Dieses Ergebnis stimmt überein mit der Angabe von Götze (5), der von einer anregenden Wirkung des Vorsekretes auf die Spermien spricht.

Die weitere Aussage Götze's, daß die Spermien nach anfänglicher Anregung bald an Aktivität verlieren, konnte bestätigt werden. Bei den zur Klärung dieser Frage angestellten Versuchen mit einer Dauer von vier Stunden, war der prozentuelle Höhepunkt der vermehrten Sauerstoffaufnahme der Vorsekret-Ejakulatspermaproben mit einem Gesamtsauerstoffverbrauch, der um 30,0% über dem der Vergleichsspermaproben lag, nach 180 Minuten erreicht.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde festgestellt, daß bezüglich der Einwirkung von körpereigenem oder körperfremdem Vorsekret auf Ejakulatsperma kein Unterschied besteht.

Zusammenfassend kann hier gesagt werden, daß Vorsekret, nachdem es frei von „reduzierenden Substanzen“, also frei von Fruktose ist, unabhängig davon, ob körpereigen oder körperfremd, einen Faktor enthält, der anregend auf Ejakulatsperma wirkt.

Der Zusatz von frischem Samenblasensekret zu Ejakulatsperma (Abb. 2) ergab im Vergleich zu den mit der gleichen Menge Samenplasma beschickten Vergleichsproben folgendes:

Der Gesamtsauerstoffverbrauch der Samenblasensekret-Ejakulatspermaproben war nach 15 Minuten um 1,4% höher als der der Vergleichsspermaproben und lag nach 150 Minuten um 13,3% über dem Gesamtsauerstoffverbrauch der Vergleichsproben.

Diese Gegenüberstellung gleicher Mengen Samenblasensekret und Samenplasma und die daraus resultierende Gegebenheit einer erhöhten Stoffwechselintensität der mit Samenblasensekret versehenen Spermaproben, bestätigten die Meinung von Mann u. a. (14, 21, 24), daß das Samenblasensekret mit seinem hohen Gehalt an Fruktose und Zitronensäure (7, 10), den überwiegenden Anteil am Energiestoffwechsel der Spermien trägt.

Vergleicht man nun sowohl den Einfluß von Vorsekret, als auch den von Samenblasensekret auf Ejakulatsperma miteinander, so ergibt sich, daß das Vorsekret momentan die Ejakulatspermien weitaus mehr zu einer erhöhten Stoffwechseltätigkeit anregt, als das Samenblasensekret. Während bei den Vorsekret-Ejakulatspermaproben der Gesamtsauerstoffverbrauch nach 15 Minuten schon um 14,5% höher war als der der Vergleichsspermaproben und nach 90 Minuten einen Höchstwert mit 28,0% erreichte, lag bei den Samenblasensekret-Ejakulatspermaproben der Gesamtsauerstoffverbrauch nach 15 Minuten um 1,4% über dem der Vergleichsspermaproben und stieg bis Versuchsende bei 150 Minuten langsam auf 13,3% an.

Die Atmungsintensität von Nebenhodensperma wurde durch frisch gewonnenes, zentrifugiertes Vorsekret angeregt (Abb. 3). Der O₂-Verbrauch der Vorsekret-Nebenhodenspermaproben war nach 15 Minuten um 12,2%, nach 30 Minuten um 9,1%, nach 45 Minuten um 11,3%, nach 60 Minuten um 12,4% und nach 150 Minuten um 15,6% höher als der Gesamtsauerstoffverbrauch der Vergleichssamenproben zu den gleichen Zeiten.

Diese Werte lassen erkennen, daß während der ersten 15 Minuten die Nebenhodenspermien durch das Vorsekret eine starke Anregung zu erhöhtem Stoffwechsel erfahren, welche dann vorübergehend bis zur 60. Minute etwas abklang und dann bis Versuchsende wieder bestand.

Das Maß der anregenden Wirkung des Vorsekretes auf Ejakulatsperma wurde jedoch beim Nebenhodensperma nicht erreicht.

Durch Vorsekret, welches nach der Gewinnung drei Stunden lang im Wasserbad — Kühlschrank aufbewahrt worden war, wurden die Nebenhodenspermien geschädigt. (Abb. 4.) Während der O₂-Verbrauch der mit gelagertem Vorsekret versehenen Nebenhodenspermaproben nach 15 Minuten noch 99,0% des Sauerstoffverbrauches der Vergleichssamenproben betrug, sank er bis zu 150 Minuten stetig auf 87,4% des O₂-Verbrauches der Vergleichssamenproben ohne Zusatz ab.

Um dieses Phänomen exakt zu deuten, wäre eine genaue Kenntnis der biochemischen und chemischen Zusammensetzung des Vorsekretes notwendig.

Anscheinend handelt es sich hier um den Einfluß bisher noch unbekannter Wirkstoffe, ferment-, hormon- oder nährstoffartigen Charakters, die nur in frischem Zustand den Stoffwechsel der Spermien aktivieren, deren Abbau- oder Umwandlungsprodukte dann aber toxisch auf die Spermien wirken und somit die Stoffwechselintensität derselben herabsetzen. Hierfür spricht vor allem der schädigende Einfluß, den gelagertes Vorsekret auf die Spermien hat.

Die Einwirkung von frischem Samenblasensekret auf Nebenhodensperma (Abb. 5) verursachte eine stark vermehrte Stoffwechseltätigkeit dieser Spermien. Bei den mit frischem Samenblasensekret beschickten Nebenhodenspermaproben lag der Gesamtsauerstoffverbrauch nach 15 Minuten um 17,1% und nach 150 Minuten um 44,7% über dem der Nebenhodenspermaproben ohne Zusatz.

Drei Stunden lang im Wasserbad — Kühlschrank aufbewahrtes Samenblasensekret bedingte zwar ebenfalls eine Steigerung der Oxygenaufnahme der Nebenhodenspermien (Abb. 6), jedoch wurden die Werte für frisches Samenblasensekret nicht erreicht. In diesem Falle war der O₂-Verbrauch der mit gelagertem Samenblasensekret beschickten Nebenhodenspermaproben nach 15 Minuten um 11,6% höher als der der Vergleichsproben, während er bei Versuchsende nur mehr um 10,9% höher lag.

Diese unterschiedliche Beeinflussung der Stoffwechselintensität von Nebenhodensperma durch frisches bzw. gelagertes Samenblasensekret erklärt sich damit, daß bekanntlich der Fruktosegehalt des Samenblasensekretes außerhalb des Organismus proportional zur Zeitdauer der Lagerung sinkt (26).

Durch eine Erhöhung der zu Nebenhodensperma hinzugegebenen Vorsekretmenge von 1,5 ml auf 3,0 ml (Seite 33) konnte festgestellt werden, daß einerseits mit der Erhöhung der Vorsekretmenge eine Steigerung des Sauerstoffverbrauches der Spermien einhergeht, andererseits aber der Zeitraum, über den hinweg sich die Stoffwechselaktivierung erstreckt, bei einer größeren Vorsekretmenge kürzer wird.

Bei der Erhöhung der Samenblasensekretmenge von 1,5 ml auf 3,0 ml ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede. Durch die Zugabe von 1,5 ml Samenblasensekret war die Anregung der Nebenhodenspermien zu erhöhter Stoffwechseltätigkeit im Gegenteil stärker als durch Zusatz von 3,0 ml frisches Samenblasensekret.

Aus diesem Vergleich kann gefolgert werden, daß die Stoffwechseltätigkeit der Spermien durch Samenblasensekret (Fruktosegaben) nur bis zu einem gewissen Maße angeregt werden kann. Ist jedoch diese Grenze der Ausnutzungsfähigkeit erreicht, dann wird durch eine erhöhte Zufuhr von Samenblasensekret keine weitere Anregung der Spermien mehr erreicht.

Zusammenfassung

1. Der mittels der Methode nach Warburg festgestellte Sauerstoffverbrauch von Ejakulat- und Nebenhodensperma wird als Kriterium für die Lebens- und Stoffwechselintensität dieser Spermien angesehen.

Mit diesem Verfahren können Einflüsse verschiedener Faktoren auf Spermien objektiv beurteilt werden.

2. Es wurde die Einwirkung von Vorsekret und Sekret der Samenblasen auf den Sauerstoffverbrauch von Ejakulat- und Nebenhodensperma beim Bullen untersucht.

3. Frisches Vorsekret regt die Samenzellen vorübergehend zu einer stark erhöhten Stoffwechseltätigkeit an.

Ein Unterschied in der Beeinflussung der Stoffwechseltätigkeit durch körpereigenes oder körperfremdes Vorsekret besteht nicht.

Die Intensität und Zeitdauer der Anregung ist abhängig von der Vorsekretmenge.

Gelagertes Vorsekret schädigt die Samenzellen.

4. Frisches Samenblasensekret verursacht eine intensive und andauernde Steigerung der Stoffwechseltätigkeit der Spermien.

Der Stoffwechsel der Samenzellen kann durch Samenblasensekret nur bis zu einer gewissen Grenze angeregt werden. Größere Mengen Samenblasensekret bewirken keine vermehrte Anregung.

Die stoffwechselsteigernde Wirkung des Samenblasensekretes vermindert sich proportional zur Zeitdauer der Lagerung des Sekretes außerhalb des Organismus.

Literaturverzeichnis

1. Br ü g g e m a n n J. und K a r g H.: „Biochemie der Fortpflanzung“. Berichte über den 2. Kongreß der deutschen Vet. Med. Gesellschaft. Bad Nauheim 1957.
2. C a r r o l l G.: „The Problem of the Prostata Gland“. Journ. Urolog. **57**, 42—48, 1947.
3. D i x o n M.: „Manometric Methods“. 2nd edit. Cambridge, **6**, 1944.
4. G l o v e r T. and M a n n T.: „On the composition of boar semen“. Journ. Agric. Sci. **44**, 355, 1954.
5. G ö t z e R.: „Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere“. M. & S. Schaper, Hannover 1949.
6. H u g g i n s C.: „The Role of the Acc. Glands in Fertility, in Diagnosis, in Sterility“. E. T. Engle, Springfield, **67**, 1946.
7. H u m p h r e y G. F. and M a n n T.: „Studies on the Metabolism of Semen. 5. Citric Acid in Semen“. Biochem. Journ. **44**, 97—105, 1949.
8. I v a n o v J. J., K a s s a v i n a B. S.: „Action of Prostatic Secretion on the Motility and Metabolism of Spermatozoa“. Nature, **158**, 624, 1946.
9. M c K e n z i e F., M i l l e r J. C. and B a u g u e s s L. C.: „The reproductive organs and semen of the boar“. Res. Bull. Mo. agric. Exp. Sta. **279**, 122, 1938.
10. L a r d y H. A. and P h i l l i p s P. H.: „The interrelation of oxydative and glykoltic processes as sources of energy for bull spermatozoa“. Amer. Journ. Physiol. **133**, 602, 1941.
11. L a r d y H. A. and P h i l l i p s P. H.: „Phospholipids as a source of energy for motility of bull spermatozoa“. Amer. Journ. Physiol. **134**, 542, 1941.
12. L u t w a k - M a n n C., M a n n T. and P r i c e D.: „Metabolic activity in tissue transplants. Hormone-induced formation of fructose and citric acid in transplants from accessory glands of reproduction“. Proc. Roy. Soc., B, **136**, 461—470, 1949.
13. L u t w a k - M a n n C. and R o w s o n L. E. A.: „The chemical composition of pre-sperm fraction of bull ejaculate obtained by electrical stimulation“. Journ. Agric. Sci. **43**, 131, 1953.
14. M a n n T.: „Fructose and Fruktolysis in Semen in Relation to Fertility“. The Lancet, **20**, 446, 1948.
15. M a n n T.: „The Biochemistry of Semen“. London, Methuen & Co, Ltd., 1949.
16. M a n n T.: „Male sex hormone and its role in reproduction“. Rec. Progr. Horm. **12**, 353, 1945.
17. M a n n T.: „Anaerobic Metabolism of Spermatozoa“. Nature, **156**, 80, 1945.
18. M a n n T.: „Fructose content and fructolysis in semen. Practical application in the evaluation of semen quality“. Journ. Agric. Sci. **38**, part III, 1948.
19. M a n n T. and G l o v e r T.: „Contribution of the seminal vesicles towards the composition of whole semen“. Journ. Endocrinol. **10**, i. v., 1954.
20. M a n n T., L e o n e E. and P o l g e C.: „The composition of stallion's semen“. Journ. Endocrinol. **13**, 279, 1956.
21. M a n n T. and P a r s o n s U.: „Effect of Testicular Hormone on the Formation of Seminal Fructose“. Nature, **160**, 294, 1947.
22. M i l o v a n o v : zitiert nach der russ. Originalarbeit von Sokolovskaja, siehe Literaturverzeichnis Nr. 26.
23. R ö d e l L.: „Beitrag zum Mechanismus der Spermienreifung im Nebenhoden“. Fortpflg., Zuchthygiene u. Haustierbesamg. **5**, 81, 1955.
24. S a l i s b u r y G. W.: „The Problem of Fertility“. E. T. Engle, Princ. New Jersey, univers. Press, 1946.
25. S c h e u n e r t A. und T r a u t m a n n A.: Lehrbuch der Veterinärphysiologie. Verlag Paul Parey, Berlin 1956.
26. S o k o l o v s k a j a J. J., D r o s b o v a L. P., G o l s e v a M. G., K o r o t k o v A. J., M a k s i m o v J. L.: „Über die Vervollkommenung der synthetischen Mittel für den Stier- und Widdersamen“. Životnovodstvo **8**, 22—32, 1949.
27. S p ö r r i H.: „Physiologische Grundlagen der künstlichen Besamung“. Schweiz. Archiv für Tierheilk., **99**, 116, 1957.
28. T o s i c J. and W a l t o n A.: „Respiration of Spermatozoa in Egg-Yolk Medium“. Nature, **156**, 507, 1946.

Lebenslauf

Ich, Friedrich Wilhelm Kinast, wurde am 27. April 1930 als Sohn des Friseurmeisters Anton Kinast und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Angermeier, in Straubing geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule trat ich 1941 in die Oberrealschule Straubing über, welche ich im Juli 1950 mit dem Reifezeugnis verließ. An der Hochschule Regensburg belegte ich im Sommersemester 1951 Zahnmedizin. Nach Ableistung des vorgeschriebenen Aufbaudienstes im Herbst 1951 führte ich mein Studium vom Wintersemester 1951/52 bis zum Sommersemester 1955 an der Tiermedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität München zu Ende. Am 1. Dezember 1956 erhielt ich meine Bestallung als Tierarzt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Walther Baier, sage ich für die Überlassung des Themas verbindlichsten Dank.

Ebenso danke ich Herrn Privatdozent Dr. Werner Leidl für die mir zuteil gewordene Unterstützung und die gewährten Diskussionen.

